



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **97931** (13) **U**  
(51) МПК  
**G01N 33/12** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 11787**  
(22) Дата подання заявки: **31.10.2014**  
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.04.2015**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.04.2015, Бюл.№ 7**

(72) Винахідник(и):  
**Богатко Надія Михайлівна (UA),**  
**Букалова Наталія Володимирівна (UA),**  
**Приліпко Тетяна Миколаївна (UA),**  
**Груба Анна Михайлівна (UA),**  
**Богатко Денис Леонідович (UA)**  
(73) Власник(и):  
**Богатко Надія Михайлівна,**  
вул. Академіка Вула, 6, кв. 97, м. Біла Церква, Київська обл., 09100 (UA),  
**Букалова Наталія Володимирівна,**  
вул. Героїв Чорнобиля, 5, кв. 78, м. Біла Церква, Київська обл., 09100 (UA),  
**Приліпко Тетяна Миколаївна,**  
вул. Князів Коріатовичів, 21/10, кв. 29, м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., 32300 (UA),  
**Груба Анна Михайлівна,**  
вул. Леваневського, 66, кв. 54, м. Біла Церква, Київська обл., 09100 (UA),  
**Богатко Денис Леонідович,**  
вул. Щорса, 85-а, кв. 50, м. Біла Церква, Київська обл., 09100 (UA)

## (54) СПОСІБ БАКТЕРІОСКОПІЧНОГО ОЦІНЮВАННЯ СТУПЕНЯ ОБСІМЕНІННЯ М'ЯСА ПТИЦІ МІКРООРГАНІЗМАМИ

### (57) Реферат:

Спосіб бактеріоскопічного оцінювання ступеня обсіменіння м'яса птиці мікроорганізмами включає використання вирізаного із глибини 1,0-1,5 см шматочка м'яса площею  $2,0 \times 2,5 \text{ см}^2$  та в подальшому фарбування препарату за Грамом у модифікації Хукера та мікроскопування за допомогою імерсійного масла зі збільшенням  $90\times$  і окуляра - зі збільшенням  $10\times$ , та роблять на предметному скельці із шматочка м'яса 2 мазка-відбитка і підрахунок кількості мікроорганізмів проводять не менше ніж у 10-15 полях зору і виводять середнє значення, враховуючи форму, спороутворення та фарбування мікроорганізмів та оцінюючи ступінь обсіменіння м'яса.

UA 97931 U



Корисна модель належить до сільського господарства, зокрема до ветеринарної медицини, і може бути використана для визначення ступеня обсіменіння м'яса птиці при визначенні його безпеки у виробничих лабораторіях на потужностях по переробці м'яса птиці, птахопереробних підприємствах та підприємствах по реалізації та зберіганні м'яса птиці (оптові бази, супермаркети, магазини), у державних лабораторіях ветеринарної медицини та у лабораторіях ветеринарно-санітарної експертизи на агропромислових ринках. За результатами цього метода можна отримати кількісні показники при оцінці ступеня обсіменіння м'яса птиці мікроорганізмами.

Аналогом корисної моделі є спосіб визначення ступеня свіжості м'яса яловичини та свинини мікроскопічним методом [1, 2], який базується на визначенні кількості мікроорганізмів і ступені розпаду м'язової тканини шляхом фарбування за Грамом та подальшому мікроскопуванню в 25 полях зору у трьох мазках-відбитках на двох предметних скельцях. Недоліком даного методу є те, що він громіздкий та дає похибку від 10 до 25 %.

Прототипом корисної моделі є метод бактеріоскопічного оцінювання ступеня обсіменіння риби, рибних продуктів мікроорганізмами [3], в якому визначають їхні морфологічні ознаки шляхом фарбування мазка-відбитка м'язової тканини риби на предметному скельці за Грамом у модифікації Хукера та подальшим мікроскопуванням та підрахуванням мікроорганізмів.

Недоліком даного методу є те, готується тільки один мазок-відбитком та використовується даний метод тільки для бактеріоскопічного оцінювання риби та рибопродуктів. Крім цього даний метод дає похибку у 15 % під час підрахування кількості мікроорганізмів лише тільки у 10 полях зору.

В основу даної корисної моделі поставлено задачу - розробити спосіб бактеріоскопічного оцінювання ступеня обсіменіння м'яса птиці мікроорганізмами шляхом зміни кількості мазків-відбитків м'яса, фарбування їх за Грамом у модифікації Хукера, а також зміни кількості полів зору під час підрахування мікроорганізмів.

Задача вирішується тим, що припікають поверхню м'яса птиці розжареним над полум'ям спиртівки шпателем, стерильними ножицями зрізують припечену поверхню м'яса і на глибині від 1,0-1,5 см стерильним скальпелем або ножицями вирізають шматочок м'яса площею  $2,0 \times 2,5 \text{ см}^2$ . Вирізаний шматочок м'яса беруть стерильним пінцетом і різними поверхнями зрізу прикладають до поверхні стерильного предметного скельця для отримання 2-х мазків-відбитків. Предметне скельце висушують на повітрі за температури навколишнього середовища, потім фіксують над полум'ям спиртівки шляхом триразового проведення крізь полум'я упродовж не більше ніж 2-3 секунд. У подальшому проводять фарбування мазків-відбитків за Грамом у модифікації Хукера:

- накладають смужку фільтрувального паперу, потім наносять на папір декілька крапель основного фарбувального розчину за Хукером на 0,5-1,0 хв, щоб фільтрувальний папір був повністю змоченим;

- предметне скельце з пофарбованими мазками-відбитками промивають струменем дистильованої води;

- на мазки-відбитки наносять піпеткою йодний розчин за Бурке на 0,5-1,0 хв;

- промивають мазки-відбитки етиловим спиртом із масовою часткою 96 %, потім занурюють предметні скельця у хімічну склянку ємністю  $100 \text{ см}^3$  з етиловим спиртом із масовою часткою 96 % на 0,5-1 хв;

- промивають мазки-відбитки дистильованою водою;

- на промиті мазки-відбитки наносять спиртовий розчин фуксину із масовою часткою 0,5 % на 2-3 хв. і потім промивають дистильованою водою та просушують фільтрувальним папером.

Пофарбовані препарати розглядають за допомогою імерсійного масла зі збільшенням  $90\times$  і окуляра - зі збільшенням  $10\times$ . Під час мікроскопування двох препаратів під мікроскопом переглядають мікроорганізми не менше ніж у 10-15 полях зору. У кожному полі зору на двох мазках-відбитках підраховують кількість мікроорганізмів і виводять середнє значення, а також визначають форму клітин (коки, мікрококи, паличкоподібні бактерії), спороутворення та відношення до фарбування за Грамом ( $\text{Gr}^+$  мікроорганізми - набувають фіолетового забарвлення;  $\text{Gr}^-$  - червоного забарвлення). І в подальшому проводять бактеріоскопічне оцінювання ступеня обсіменіння м'яса.

Етапи вирішення даної задачі наведено у нижчезазначених прикладах.

Приклад 1. Для розробки методу використовують шматочок м'яса птиці площею  $1,0 \times 1,5 \text{ см}^2$ , що вирізаний на глибині від 0,5-1,0 см стерильним скальпелем або ножицями, прикладають його різними поверхнями зрізу до поверхні стерильного предметного скельця для отримання 1 мазка-відбитка. Предметне скельце висушують на повітрі за температури навколишнього середовища, потім фіксують над полум'ям спиртівки шляхом триразового проведення крізь

полум'я упродовж не більше ніж 2-3 секунд. У подальшому проводять фарбування мазків-відбитків за Грамом у модифікації Хукера. Пофарбовані препарати розглядають за допомогою імерсійного масла зі збільшенням  $90\times$  і окуляра - зі збільшенням  $10\times$ . Під час мікроскопування одного мазку-відбитку препаратів під мікроскопом переглядають мікроорганізми не менше ніж у 15-20 полях зору. У кожному полі зору у мазку-відбитку підраховують кількість мікроорганізмів і виводять середнє значення, а також визначають форму клітин (коки, мікрококи, паличкоподібні бактерії), спороутворення та відношення до фарбування за Грамом ( $\text{Gr}^+$  мікроорганізми - набувають фіолетового забарвлення;  $\text{Gr}^-$  - червоного забарвлення). І в подальшому проводять бактеріоскопічне оцінювання ступеня обсіменіння м'яса.

Приклад 2. Для розробки методу використовують шматочок м'яса птиці площею  $1,5\times 2,0\text{ см}^2$ , що вирізаний на глибині від 1,0-1,5 см стерильним скальпелем або ножицями, прикладають його різними поверхнями зрізу до поверхні стерильного предметного скельця для отримання 3-х мазків-відбитків. Предметне скельце висушують на повітрі за температури навколишнього середовища, потім фіксують над полум'ям спиртівки шляхом триразового проведення крізь полум'я упродовж не більше ніж 2-3 секунд. У подальшому проводять фарбування мазків-відбитків за Грамом у модифікації Хукера. Пофарбовані препарати розглядають за допомогою імерсійного масла зі збільшенням  $90\times$  і окуляра - зі збільшенням  $10\times$ . Під час мікроскопування трьох мазків-відбитків під мікроскопом переглядають мікроорганізми не менше ніж у 20-25 полях зору. У кожному полі зору у 3-х мазках-відбитках підраховують кількість мікроорганізмів і виводять середнє значення, а також визначають форму клітин (коки, мікрококи, паличкоподібні бактерії), спороутворення та відношення до фарбування за Грамом ( $\text{Gr}^+$  мікроорганізми - набувають фіолетового забарвлення;  $\text{Gr}^-$  - червоного забарвлення). І в подальшому проводять бактеріоскопічне оцінювання ступеня обсіменіння м'яса.

Приклад 3. Для розробки методу використовують шматочок м'яса птиці площею  $2,0\times 2,5\text{ см}^2$ , що вирізаний на глибині від 1,0-1,5 см стерильним скальпелем або ножицями, прикладають його різними поверхнями зрізу до поверхні стерильного предметного скельця для отримання 2-х мазків-відбитків. Предметне скельце висушують на повітрі за температури навколишнього середовища, потім фіксують над полум'ям спиртівки шляхом триразового проведення крізь полум'я упродовж не більше ніж 2-3 секунд. У подальшому проводять фарбування мазків-відбитків за Грамом у модифікації Хукера. Пофарбовані препарати розглядають за допомогою імерсійного масла зі збільшенням  $90\times$  і окуляра - зі збільшенням  $10\times$ . Під час мікроскопування двох мазків-відбитків під мікроскопом переглядають мікроорганізми не менше ніж у 10-15 полях зору. У кожному полі зору у двох мазках-відбитках підраховують кількість мікроорганізмів і виводять середнє значення, а також визначають форму клітин (коки, мікрококи, паличкоподібні бактерії), спороутворення та відношення до фарбування за Грамом ( $\text{Gr}^+$  мікроорганізми - набувають фіолетового забарвлення;  $\text{Gr}^-$  - червоного забарвлення). І в подальшому проводять бактеріоскопічне оцінювання ступеня обсіменіння м'яса.

Порівняльна оцінка результатів випробування вищезазначених способів бактеріоскопічного оцінювання ступеня обсіменіння м'яса птиці до прототипу наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Порівняння способів бактеріоскопічного оцінювання ступеня обсіменіння м'яса птиці до прототипу

№ п/	Показники, що порівнюються	Прототип	Приклади		
			1	2	3
1.	Складові методу:				
	Глибина розрізу м'яса, см:	1,0-1,5	0,5-1,0	1,0-1,5	1,0-1,5
	Площа шматка м'яса, $\text{см}^2$	$2,0\times 2,5$	$1,0\times 1,5$	$1,5\times 2,0$	$2,0\times 2,5$
	Кількість мазків відбитків	1	1	3	2
2.	Час фіксування мазків-відбитків із м'яса, с	2-3	2-3	2-3	2-3
3	Метод фарбування мазків-відбитків м'яса	за Грамом у модифікації Хукера	за Грамом у модифікації Хукера	за Грамом у модифікації Хукера	за Грамом у модифікації Хукера

Продовження табл.1 1

Порівняння способів бактеріоскопічного оцінювання ступеня обсіменіння м'яса птиці до прототипу

№ п/	Показники, що порівнюються	Прототип	Приклади		
			1	2	3
4.	Експозиція проведення фарбування, хв.	4,5-8,0	4,5-8,0	4,5-8,0	4,5-8,0
5.	Мікроскопія мазків-відбитків за допомогою імерсійного масла	збільшення 90 <sup>x</sup> ; окуляр зі збільшенням 10 <sup>x</sup>	збільшення 90 <sup>x</sup> ; окуляр зі збільшенням 10 <sup>x</sup>	збільшення 90 <sup>x</sup> ; окуляр зі збільшенням 10 <sup>x</sup>	збільшення 90 <sup>x</sup> ; окуляр зі збільшенням 10 <sup>x</sup>
6.	Кількість досліджуваних полів зору	не менше ніж 10	15-20	20-25	10-15
7.	Швидкість визначення досліджу, хв.	15-20	30-32	40-42	20-22
8.	Стабільність показників по визначенню кількості мікроорганізмів в м'ясі птиці, %	91,2	81,0	83,5	95,5
9.	% співвідношення результатів досліджень до показників летких жирних кислот в м'ясі птиці	82,0-85,7	81,0-83,8	85,4-87,5	90,5-92,4
1	% співвідношення результатів досліджень до кількісних показників аміно-аміачного азоту	81,5-84,0	80,5-83,0	88,5-90,5	92,0-94,5

Дані таблиці 1 свідчать, що більш достовірні дані в порівнянні до показників визначення летких жирних кислот в м'ясі птиці - у 90,5-92,4 % та до результатів досліджень по кількісним показникам аміно-аміачного азоту в м'ясі птиці - у 92,0-94,5 % були отримані при застосуванні методу за прикладом № 3 [4]. Також найвища стабільність показників по кількості мікроорганізмів при обсіменіння м'яса птиці була за прикладом № 3-95,5 %.

Використовуючи метод за прикладом № 3, ми провели бактеріоскопічне оцінювання ступеня обсіменіння мікроорганізмами м'яса птиці на 38 пробах: м'ясо птиці свіже - 14 проб, м'ясо птиці сумнівної свіжості - 12 проб, м'ясо птиці несвіже - 12 проб. Попередньо проби м'яса птиці були досліджені на встановлення ступеня свіжості загальноприйнятими методами (органолептичним [5], фізико-хімічними - величина рН, кількість летких жирних кислот та аміно-аміачного азоту [4, 6]). Результати наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Показники загальноприйнятих методів та бактеріоскопічного оцінювання ступеня обсіменіння м'яса птиці мікроорганізмами за прикладом № 3

№/№	Показники	Ступінь свіжості мяса птиці		
		свіже (n=14)	сумнівної свіжості (n=12)	несвіже (n=10)
1.	Величина рН м'яса	5,9±0,1	5,5±0,1	5,1±0,1
2.	Кількість ЛЖК, мг КОН	3,74±0,08	6,34±0,18	11,09±0,42
3.	Кількість аміно-аміачного азоту, мг	0,68±0,04	1,45±0,05	2,06±0,16
4.	Бактеріоскопічне оцінювання м'яса, (кількість мікроорганізмів)	6±2	14±2	64±6

Проведеними дослідженнями встановлено, що при підрахуванні мікроорганізмів у свіжому м'ясі птиці виявляли більшість коків, як  $G^+$  так і  $G^-$ ; у м'ясі птиці сумнівної свіжості - виявляли

коки, мікрококи та паличкоподібні мікроорганізми  $G_r^+$  та  $G_r^-$ ; у несвіжому м'ясі птиці - переважали паличкоподібні мікроорганізми  $G_r^+$  та  $G_r^-$ . Ці дані були стабільними та достовірними, отже ці показники можна використовувати при бактеріоскопічному оцінюванні ступеня обсіменіння м'яса птиці мікроорганізмами.

5 Крім цього, слід зазначити, що метод є простим у виконанні, а його результати дають конкретні кількісні показники по ступеню обсіменіння м'яса птиці мікроорганізмами.

Метод за прикладом № 3 нами пропонується як кількісний спосіб бактеріоскопічного оцінювання ступеня обсіменіння м'яса птиці поряд з іншими методами визначення свіжості м'яса. Метод має перевагу перед існуючими кількісними методами визначення ступеня свіжості м'яса в тому, що результати мають конкретне, достовірне кількісне значення.

Джерела інформації:

1. ГОСТ 23392-78 Мясо. Методы химического и микроскопического анализа свежести мяса. - М.: Госстандарт, 1978. - 9 с.

2. ГОСТ 21237-75 Мясо. Методы бактериологического анализа. - М.: Госстандарт, 1975. - 26 с.

3. ДСТУ 4895:2007 Риба та рибні продукти. Метод бактеріоскопічного оцінювання. - Київ: Держспоживстандарт України, 2008. - 7 с.

4. ГОСТ 7702.1-74 Мясо птицы. Методы химического и микроскопического анализа свежести мяса. - М.: Госстандарт, 1974. - 10 с.

5. ГОСТ 7702.0-74 Мясо птицы. Методы отбора образцов. Органолептические методы оценки качества. - М.: Госстандарт, 1974.

6. Богатко Н.М. Ветеринарно-санітарна експертизи м'яса свійської птиці (для слухачів ІПНКСВМ, студентів та магістрантів ФВМ): Методичні рекомендації / Н.М. Богатко, В.В. Власенко, П.Д. Константинов та ін. - Біла Церква, 2009. - 75 с.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб бактеріоскопічного оцінювання ступеня обсіменіння м'яса птиці мікроорганізмами, що включає використання вирізаного із глибини 1,0-1,5 см шматочка м'яса площею  $2,0 \times 2,5 \text{ см}^2$  та в подальшому фарбування препарату за Грамом у модифікації Хукера та мікроскопування за допомогою імерсійного масла зі збільшенням  $90\times$  і окуляра - зі збільшенням  $10\times$ , який **відрізняється** тим, що роблять на предметному скельці із шматочка м'яса 2 мазка-відбитка і підрахунок кількості мікроорганізмів проводять не менше ніж у 10-15 полях зору і виводять середнє значення, враховуючи форму, споруутворення та фарбування мікроорганізмів та оцінюючи ступінь обсіменіння м'яса.

---

Комп'ютерна верстка Д. Шеверун

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601